

Efecto del extracto etanólico de propóleos en una película de carragenina sobre la vida de anaquel de carne de vacuno.

Effect of ethanolic extract of propolis on a carrageenan film on the shelf life of beef.

María Nelly Vásquez-Valles^{1,*}

¹Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo II s/n – Ciudad Universitaria, Trujillo, Perú.

*Autor correspondiente: mvasquezv@unitru.edu.pe (M. Vásquez-Valles)

RESUMEN

Se evaluó el efecto del extracto etanólico de propóleos en una película de carragenina sobre la vida de anaquel de carne de vacuno. Se obtuvo el extracto etanólico del propóleos con etanol de 96°. Se trabajó con lonjas de carne de 45 a 50 g, los que se introdujeron en la solución de la película comestible con el extracto al 0,01; 0,05 y 0,1%. Se trabajó con dos controles: uno con película de carragenina y el otro sin película. Las carnes con y sin tratamiento se colocaron en recipientes de poliestireno, envueltos en cloruro de polivinilo y almacenados a 4 °C por doce días. Se evaluó el pH, la capacidad de retención de agua y la pérdida de peso; el recuento de bacterias aerobias mesófilas y hongos mediante recuento en placa y coliformes totales por el método del número más probable (NMP). Los datos se analizaron mediante el ANVA diseño mixto, y las pruebas post ANVA de comparaciones múltiples de Duncan y Dunnet, todas con un nivel de confianza del 95% ($\alpha = 0,05$). Los resultados muestran que la concentración del 0,1% de extracto etanólico de propóleos, tiene efecto sobre las características físico químicas y microbiológicas de la carne hasta el sexto día de almacenamiento con lo que incrementa la vida de anaquel de la carne.

Palabras clave: Propóleos; vida de anaquel; película comestible; bacterias mesófilas; coliformes.

ABSTRACT

The effect of the ethanolic extract of propolis on a carrageenan film on the shelf life of beef was evaluate. The ethanolic extract was obtain with 96° ethanol. We worked with meat slices of 45 to 50 g, which were introduce into the solution of the edible film with propolis to the 0.01, 0.05 and 0.1%. We worked with two controls: one with carrageenan film and the other without film. Meat with and without treatment were placed in polystyrene containers, wrapped with polyvinyl chloride and stored at 4 °C for twelve days. pH, water holding capacity, weight loss, count of mesophilic aerobic bacteria and fungi were determined by plaque count and total coliforms by the most probable number (MPN) were evaluated. The data analysis was performed using the ANVA mixed design, and the post ANVA tests of multiple comparisons of Duncan and Dunnet, all with a confidence level of 95% ($\alpha = 0.05$). The results show that the 0.1% concentration of ethanol extract of propolis has an effect on the physical and chemical microbiological characteristics of the meat until the sixth day of storage, which increases the shelf life of the meat.

Keywords: propolis; shelf life; edible film; mesophilic bacteria; coliforms.

1. INTRODUCCIÓN

El propóleos es una resina natural, pegajosa y gomosa, que es producida por *Apis mellifera* L. (abeja) a partir de yemas, hojas y exudados de ciertas plantas y que posee propiedades farmacológicas y benéficas para el ser humano (Gutiérrez-Cortés y Suárez, 2014; Delgado et al., 2015; Rao et al., 2017; Salatino y Salatino, 2017); su composición química es variada dependiendo del tipo de plantas y del entorno donde se encuentra la colmena (Fernández et al., 2015; Feás et al., 2016), usualmente contiene resinas, las que están compuestas de flavonoides y ácidos fenólicos, ceras, aceites esenciales, polen, fierro, Cinc, vitaminas, ácido benzoico, ésteres de ácidos grasos, cetonas, lactonas, esteroides y azúcares (Sarıçoban y Yerlikaya, 2016; Rao et al., 2017), que le dan un amplio espectro de actividad antimicrobiana por lo que se pueden usar en películas comestibles y

recubrimientos biodegradables delgados de polímeros, como una alternativa de alimentos naturales, seguros y saludables en frutas (Azarakhsh et al., 2014; Passos et al., 2016; Aziz y Karboune, 2016), pescado (Sánchez-Ortega et al., 2014), lechuga (Feás et al., 2016) y tubérculos (Bahtiti, 2013) ya que los consumidores reclaman alimentos naturales que mejoren su salud, les proporcionen bienestar y les protejan de enfermedades crónicas (De Ancos et al., 2016).

Además del pescado, la carne fresca de bovino, es un alimento altamente proteico (15-20%), (Superintendencia de Industria y comercio, 2013), presenta una elevada actividad de agua (Aw) (Sánchez-Ortega et al., 2014) por lo que es altamente perecedero, ya que, favorece el crecimiento microbiano (Doulgeraki et al., 2012), el que se traduce en malos olores, sabores desagradables, cambios en la textura y formación de sustancias mucilaginosas (Dong y Holley, 2012).

Las carnes se conservan haciendo uso de sales de nitratos y nitritos; sin embargo, se conoce que su uso conduce a la formación de nitrosaminas la cual se considera un potente carcinógeno para el hígado.

El incremento de la vida de anaquel de la carne fresca depende principalmente del pH, color, capacidad de retención de agua (Venkata et al., 2015), carga bacteriana inicial, temperatura, tiempo de almacenamiento y atmósfera circundante (López et al., 2013), por lo que se emplean temperaturas bajas; sin embargo, junto con estos sistemas se pueden usar películas comestibles en base a pullulanos (Mohamed et al., 2014), alginatos, quitosanos (AMPC, 2014; Vodnar et al., 2015; Mitelut et al., 2015), carragenatos y otros, asociados con componentes antimicrobianos (Salgado et al., 2015; Anwar et al., 2015; Sepúlveda et al., 2013; Higuera et al., 2014,) como el aceite esencial de orégano, clavo de olor, extracto de propóleos y otros (Gutiérrez-Cortés y Suárez, 2014; Malhotra et al., 2015), que protejan la carne, ya que estas evitarían hasta cierto punto la deshidratación superficial, el incremento de microorganismos, la posterior contaminación microbiana y controlarían el desarrollo de microorganismos alteradores y patógenos, ya que las personas desean productos con mayor tiempo de vida de anaquel y al mismo tiempo su composición no se vea afectada por el uso de componentes que puedan ser perjudiciales para la salud (Venkata et al., 2015).

La ganadería de carne de bovinos de los países andinos ha tenido un crecimiento muy elevado de su producción durante la última década (20% entre 1992-2000) con relación al resto de América Latina; sin embargo, el aumento de producción ha sido insuficiente para satisfacer el consumo que es moderado. Perú tiene un consumo de carne per cápita de 6 Kg/habitante/año y una producción de carne 230 Kg/animal/año. El consumo de carne bovina, se da especialmente en las zonas urbanas, donde más del 40% de carne de bovino se consume en Lima la que tiene el 22% de la población del país (FAO y AGAL, 2003). Durante los últimos años las personas prefieren consumir alimentos mínimamente procesados y que no tengan conservantes químicos porque los relacionan con efectos negativos sobre la salud del consumidor, así como productos fáciles de preparar y que no le demanden más tiempo en su elaboración. Teniendo en cuenta que el propóleo es un producto orgánico, que no causan daño al consumidor, que tiene muchos efectos benéficos sobre la salud debido a su composición química y que puede ser incorporado en una película comestible en base a carragenina y no habiéndose encontrado trabajos que incorporen estos componentes para lonjas de carne fresca es que se realizó la investigación con el objetivo de evaluar el efecto del extracto etanólico de propóleos en una película de carragenina sobre la vida de anaquel de carne de vacuno fresca.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico. Estuvo conformado por 63 muestras de lonjas de carne de res parte asado, frescas, jugosas, de color rosado cubiertas con película de carragenina, y suplementado con extracto alcohólico de propóleos al 0,01; 0,05 y al 0,1% y dos controles de 21 lonjas cubiertas con carragenina y 21 sin cubierta comestible.

Obtención del extracto etanólico de propóleos (Gutiérrez-Cortés y Suárez, 2014). Se colectó 200 g de propóleos del distrito de Pacora (Lambayeque), ubicada a una altura de 57 msnm., el cual fue transportado al laboratorio de Química Física de la Universidad Nacional de Trujillo- Perú (UNT), donde se maceró durante tres semanas en etanol de 96°, se filtró, concentró en un rotavapor y almacenó en viales de color ámbar.

Obtención y procesamiento de las lonjas de carne. Las piezas completas de carne de res parte “asado”, se adquirieron en el mercado de Monserrate de la ciudad de Trujillo, y se transportaron en un cooler entre 15-18 °C al laboratorio de Microbiología y Tecnología de Alimentos de la UNT, luego se cortaron en piezas de 45 a 50 g.

Elaboración de la solución de película de carragenina con extracto etanólico de propóleos (EAP) (Pascall y Lin, 2013). En una licuadora estéril se añadió 5 g de kappa carragenina y 250 ml de agua destilada estéril (ADE); se homogenizó a 1500 rpm durante dos minutos y adicionó 1,65g de glicerina más 25 µl de EAP

(0.01%); se homogenizó por dos minutos y pasteurizó a 70 °C por diez minutos. Se dejó enfriar a 25 °C. De la misma forma se prepararon las soluciones de carragenina y EAP al 0,05 y 0,1%.

Inmersión de la carne en la solución de la película de carragenina a las diferentes concentraciones de extracto etanólico de propóleos (Sepúlveda et al., 2013). Las lonjas de carne se distribuyeron aleatoriamente en cinco grupos de trabajo, compuestos de 8 lonjas de carne cada uno, que correspondieron a tres grupos experimentales: 0,01; 0,05 y 0,1% de EAP y dos grupos control: lonjas de carne con y sin carragenina. Cada grupo experimental se sumergió por un minuto en la solución de la película comestible.

Secado, empaquetado y almacenado. Las lonjas de carne de los grupos experimentales y las del grupo control se colocaron en recipientes de poliestireno y se secaron durante cinco minutos a temperatura ambiente en una cámara de flujo laminar estéril hasta el secado de la película; luego se cubrieron con un film de cloruro de polivinilo y se almacenaron a 4 °C con $70 \pm 5\%$ de humedad relativa durante 12 días para su evaluación.

Determinación de pH (González et al., 2009). Se pesó diez gramos de carne cortada en trozos pequeños y se colocó en 90 ml de ADE, se homogenizó durante un minuto y se dejó en reposo durante una hora. Se midió el pH con un pH metro Jenway 6000.

Determinación de la pérdida de peso (González et al., 2009). Las lonjas de carne se pesaron a 0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12 días. Los resultados se expresaron en porcentaje en función del peso inicial y el peso final multiplicado por cien.

Determinación de la Capacidad de Retención de agua (CRA) (Köhn et al., 2015). Se pesó cinco gramos de carne picada en dos tubos de centrífuga, y se adicionó 8 ml de cloruro de sodio (NaCl) 0,6 M. Los tubos se refrigeraron a 5 °C durante 30 minutos y se centrifugaron a 1500 rpm por 15 minutos. Los resultados se expresaron como porcentaje de la solución de NaCl retenido.

Evaluación de la calidad microbiológica. Se realizó el Recuento Total de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables en Plate Count Agar (PCA)(Merck, KGa, Darmstadt, Alemania) Mohos y levaduras en Agar Glucosa Oxitetraclina (OGA))(Merck, KGa, Darmstadt, Alemania) mediante el Método de recuento en placa. La enumeración de Coliformes Totales se realizó mediante la técnica del Número Más Probable (NMP), en caldo BRILA)(Merck, KGa, Darmstadt, Alemania).

Análisis estadístico. El análisis de datos se realizó mediante el diseño de medidas repetidas cumpliendo el supuesto básico de homoscedasticidad para obtener el ANVA mixto a través de la prueba de esfericidad de Mauchly, y las pruebas post ANVA de comparaciones múltiples de Duncan y Dunnet, todas con un nivel de confianza del 95% ($\alpha=0,05$), utilizando el programa estadístico SPSS V 20.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los carragenatos y dentro de ellos las carrageninas son polímeros muy usados en la industria alimentaria conjuntamente con antimicrobianos naturales como ciertos extractos de plantas, incorporados en las matrices alimentarias o formando parte de películas comestibles como parte de las tecnologías de barrera (Vodnar et al., 2015; Venkata et al., 2015). La carne fresca es uno de los alimentos altamente perecederos por lo que necesita de alguna forma de conservación adicional para alargar su vida de anaquel, además de las temperaturas bajas como la refrigeración. El pH de la carne es uno de los indicadores de los cambios bioquímicos pos mortem que sufre la carne; varía de 5.4 a 5.7 en el músculo post rigor; además, se considera como uno de los principales factores que afectan la calidad de la carne el que está determinado por el contenido de glucógeno del músculo (Sánchez-Ortega et al., 2014; AMPC, 2015). Los valores de pH inicial (5.7) que se muestran en la figura 1, permanecen constantes sin diferencia significativa hasta el sexto día de almacenamiento a las diferentes concentraciones del extracto etanólico de propóleos en la película de carragenina, por lo que se puede decir que hay un incremento de la vida de anaquel de las lonjas de carne, mientras que el control (carne sin cubierta de carragenina) muestra un mayor pH en relación al resto de tratamientos. Además, se observa que, hasta el último día de conservación, los diferentes tratamientos mantienen el $\text{pH} \leq 6.5$ lo que no sucede con el control, en el que su valor es mayor a 6.5, esto se explicaría debido posiblemente a la degradación autolítica de proteínas por la μ -calpaína (Venkata et al., 2015) seguida de la microbiana, con la producción de bases nitrogenadas y aminos lo que favorecerían el desarrollo microbiano tal como se muestra en la figura 4 en la que el número de bacterias mesófilas aerobias se incrementa hasta el último día de evaluación, lo que implica la alteración de las características físico químicas de la carne, lo que según Realini y Marcos (2014) se evitaría usando empaques inteligentes con componentes activos asegurando la calidad e inocuidad de la carne. De todos los tratamientos

con el extracto etanólico de propóleos la concentración del 0.10% es la que tiene mejor efecto sobre el pH de la carne hasta el último día de conservación a 4 °C.

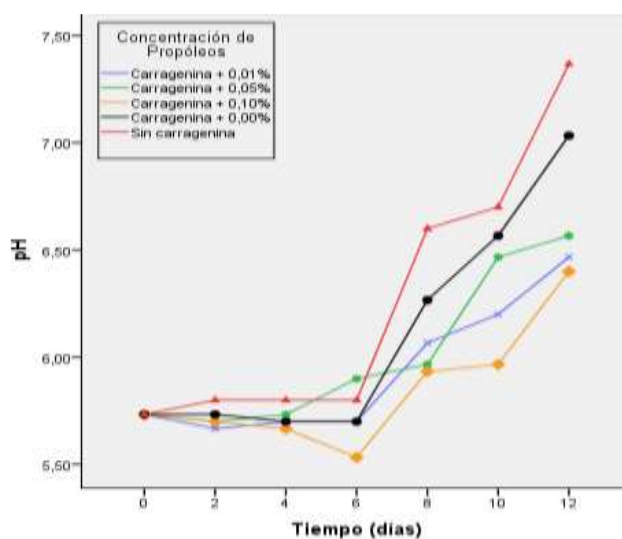


Figura 1. pH de la carne de vacuno con película de carragenina a diferentes concentraciones del extracto etanólico de propóleos, en relación al tiempo de conservación a 4 °C

En la figura 2 se aprecia que las muestras con recubrimiento comestible presentan menor pérdida de peso en relación a las muestras control y que el tratamiento con 0,1 por ciento de propóleos muestra al octavo día de conservación el menor porcentaje de pérdida de peso (1,9%). La pérdida de peso en carne fresca es de gran importancia ya que esta es vendida por peso y la cantidad de agua que pierde sea por evaporación (humedad) o por goteo durante el almacenamiento afecta el rendimiento y su valor económico. Suárez et al. (2013) al trabajar con filetes de *Piaractus brachypomus* (cachama), con EAP al 0,8% y 1,2% y almacenarlos durante 24 días a 4°C en atmósfera modificada encuentra que a medida que transcurre el tiempo el pescado va perdiendo peso, como lo encontrado en esta investigación lo que concuerda con los valores de la capacidad de retención de agua (CRA) de la carne como se observa en la figura 3 en la que a medida que transcurre el tiempo de conservación la CRA va disminuyendo paulatinamente en todos los tratamientos; siendo el 0,1% el tratamiento que tiene un mayor valor en la CRA lo que podría deberse según Suárez et al. (2013) al mayor contenido de compuestos fenólicos presentes en este tratamiento ya que estos pueden formar puentes de hidrógeno con el agua los que influenciarían en una mayor CRA de la carne de vacuno. Sin embargo, sucede lo contrario con el control el cual incrementa paulatinamente el pH alejándose del punto isoeléctrico de las proteínas de la carne con lo cual debería haber una mayor CRA (Torrescano et al., 2008), lo que no sucede en este estudio ya que se observa una menor CRA debido posiblemente al fenómeno de deshidratación que sufren las carnes en refrigeración a pesar de estar envueltas en sus recipientes con cloruro de polivinilo y a que no es músculo entero sino solo una lonja con la cual se incrementa el área superficial de deshidratación y la consecuente pérdida por goteo del agua retenida por las miofibrillas.

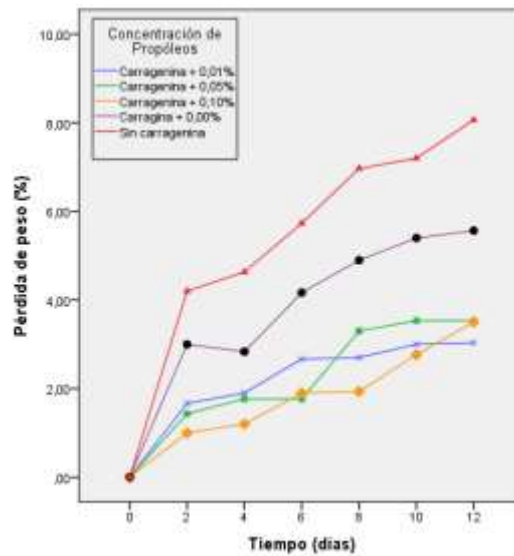


Figura 2. Pérdida de peso de carne de vacuno con película de carragenina a diferentes concentraciones del extracto etanólico de propóleos, en relación al tiempo de conservación a 4 °C.

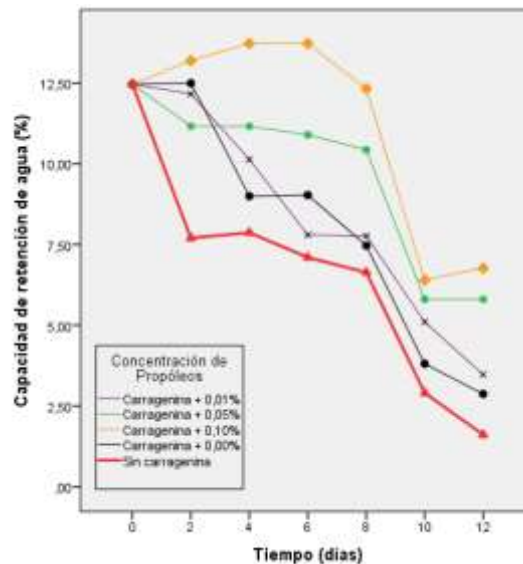


Figura 3. Capacidad de retención de agua de la carne de vacuno a diferentes concentraciones del extracto etanólico de propóleos, en relación al tiempo de conservación a 4 °C.

La tabla 1 muestra que las variabilidades generadas por las diferentes concentraciones de propóleos en relación al tiempo de almacenamiento son homogéneas, por lo tanto, cumplen con el supuesto de esfericidad de Mauchly ($p > 0.05$).

Tabla 1. Resultados de la Prueba de esfericidad de Mauchly para las diferentes concentraciones con el extracto etanólico de propóleos.

Variables	W de Mauchly	Aprox. Chi-cuadrado	GL	Sig. (p)
- pH	0.017	31,71	20	0,061
- Pérdida de peso	0,020	30,408	20	0,082

Variables	W de Mauchly	Aprox. Chi-cuadrado	GL	Sig. (p)
- Capacidad de Retención de Agua (CRA)	0,060	21,920	20	0,386

p>0.05

El análisis de varianza de medidas repetidas con un $p < 0.05$ muestra que las diferentes concentraciones de propóleos poseen diferente efecto en la calidad de la carne en relación a los parámetros fisicoquímicos evaluados tal como se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Análisis de Varianza para las diferentes concentraciones de propóleos

pH						
FV	SC	GL	CM	F	Sig	Eta ²
Concentraciones	,301	4	,075	22,09	0,000	0,89
Error	,034	10	,003			
Pérdida de Peso						
FV	SC	GL	CM	F	Sig	Eta ²
Concentraciones	25,562	4	6,390	4014,5	0,000	0,99
Error	,016	10	,002			
CRA						
FV	SC	GL	CM	F	Sig	Eta ²
Concentraciones	36,123	4	9,031	2061,3	0,000	0,99
Error	,044	10	,004			

La figura 4 muestra que el número de Bacterias Aerobias Mesófilas viables (BAM) incrementa a lo largo de todo el periodo de la investigación, permaneciendo en valores aceptables hasta el octavo día de conservación (1.0×10^6) como lo establece la NTS N° 071- MINSA/DIGESA (2008) la que establece los parámetros bacteriológicos de la carne de vacuno en refrigeración como aceptable en un rango de 10^5 a 10^7 ufc/g, y en los días posteriores todas las muestras incrementan significativamente el número de BAM, siendo estas carnes inaceptables para el consumo humano. Al respecto, hay que mencionar que no se han encontrado trabajos con cubiertas de carragenina para establecer comparaciones con otros investigadores sin embargo investigadores como Fayaz et al. (2013) al trabajar en bolas de carne con piel de pollo y almacenarlos en refrigeración durante catorce días a 4 ± 1 °C en bolsas de polietileno de baja densidad y analizarlos a intervalos regulares de 0, 7 y 14 días el recuento de BAM aumentaron significativamente ($P < 0.05$) como lo ocurrido en esta investigación. Asimismo, Vargas-Sánchez et al. (2014) aplicó propóleos comercial al 2% en empanadas de carne encontrando disminución del crecimiento bacteriano entre un 19.75 y 27.03% concluyendo que el extracto del propóleos tiene un gran potencial como aditivo antimicrobiano; es más, Casquete et al. (2016) al evaluar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de propóleos en carne fermentada para el control de *Listeria innocua* encontró que a 0, 28 mg/ml en un tiempo de 8 días de almacenamiento redujo significativamente la supervivencia del microorganismo.

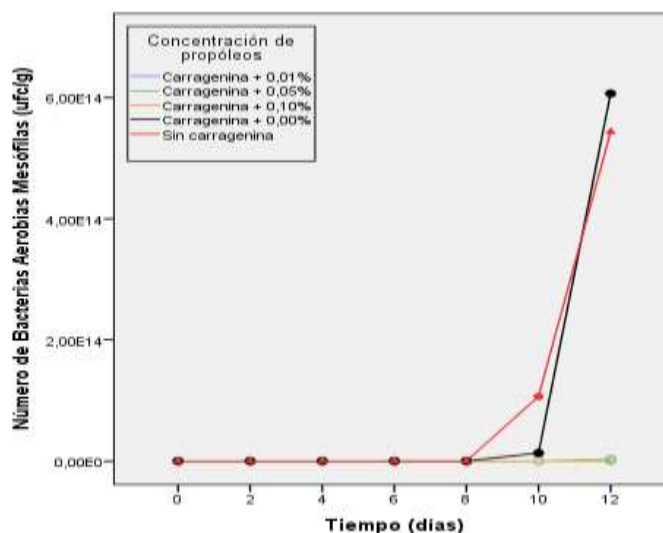


Figura 4. Número de bacterias aerobias mesófilas de la carne de vacuno en una película de carragenina con diferentes concentraciones del extracto etanólico de propóleos, en relación al tiempo de conservación a 4 °C.

Los coliformes son microorganismos que se encuentran en forma natural en carnes de bovino como parte de la microflora normal y como contaminación por deficientes prácticas higiénicas por parte de los operarios o de las mesas donde se encuentran las carnes. Al igual que con las BAM, la figura 5 muestra el mismo comportamiento en relación al incremento de la población de coliformes a partir del octavo día de almacenamiento ya que estos microorganismos son parte de la población de BAM analizadas lo que conlleva a descalificar la carne para consumo humano de acuerdo a la normatividad vigente NTS N° 071- MINSA/DIGESA (2008), siendo el mejor tratamiento el propóleos al 0.10%

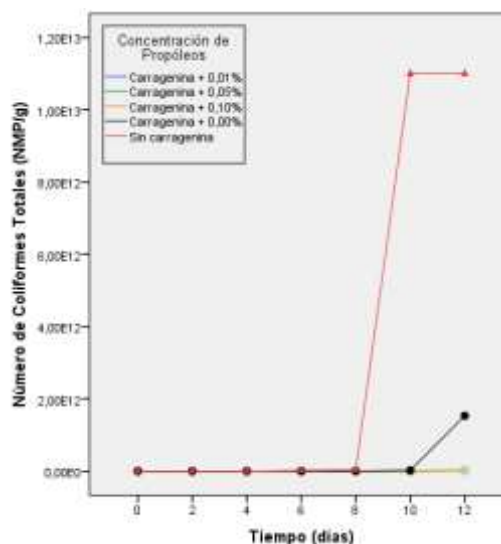


Figura 5. Número de Coliformes Totales (NMP/g), de la carne de vacuno en una película de carragenina con diferentes concentraciones del extracto etanólico de propóleos, en relación al tiempo de conservación a 4 °C.

Al investigar hongos, solo se encontraron levaduras (ufc/g) las que se muestran en la figura 6, siendo los tratamientos del 0,05% y 0,1% los que mantienen el número inicial de levaduras hasta el sexto día. Al respecto, Gutiérrez-Cortés y Suárez (2014) al realizar el estudio de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico del propóleos contra hongos filamentosos encuentra que el propóleos a concentraciones de 0,005 a 0,5 mg/ml inhibe el crecimiento fúngico. Conociendo que la temperatura de congelación de la carne es de -

1,5°C y la temperatura óptima de almacenamiento en refrigeración es de -1 °C, temperatura a la cual los microorganismos tienen una velocidad de crecimiento lento y al llevarse a cabo la investigación a 4°C se podría decir que la temperatura ha tenido un efecto sinérgico con las diferentes concentraciones de propóleos, en la conservación de la carne. La presencia de componentes con capacidad antibacteriana en el extracto etanólico de propóleos, hace que sean muy importantes para la industria alimentaria ya que pueden favorecer la inocuidad y estabilidad de los alimentos según De Ancos et al. (2016).

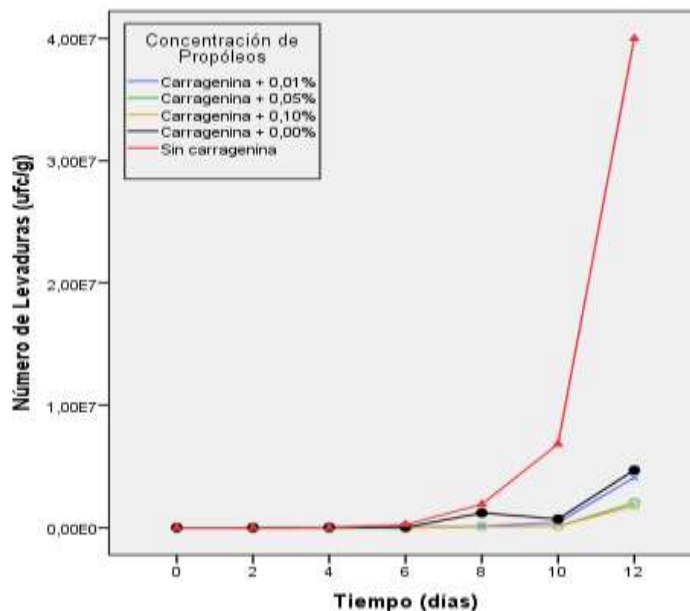


Figura 6. Número de levaduras de la carne de vacuno en una película de carragenina con diferentes concentraciones del extracto etanólico de propóleos, en relación al tiempo de conservación a 4 °C.

La prueba estadística de Dunnet con un $p < 0.05$ muestra que todos los tratamientos con el extracto etanólico de propóleos tienen efecto diferente sobre los parámetros analizados por lo tanto estadísticamente son significativos a excepción del número de BAM ya que con un $p > 0.05$ todos los tratamientos generan el mismo efecto, en relación al control; es decir, hay un incremento paulatino de BAM a lo largo de todos los días de conservación de la carne tal y como se ha visto en la figura 4. Al realizar la prueba de comparaciones múltiples de Duncan establece que el mejor tratamiento con el propóleos es del 0.10% de acuerdo a cada variable en función al objetivo para el cual fue propuesto. Asimismo, hay que hacer notar que la película comestible con el extracto etanólico de propóleos ha sido elaborada de forma artesanal tal y cual podrían hacerlo las personas que se dedican a vender carne fresca, por lo que el valor comercial no incrementaría significativamente.

4. CONCLUSIONES

La concentración del 0,1% del extracto etanólico de propóleos muestra mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento microbiano así como mantiene las características de pérdida de agua, pH y capacidad de retención de agua con lo que incrementa la vida de anaquel de la carne en refrigeración hasta el sexto día de evaluación. Conociendo que el propóleos es un conservante natural y posee una amplia gama de compuestos que mejoran la salud de las personas y al haber trabajado con concentraciones mínimas en carne fresca, se sugiere investigar mayores concentraciones de propóleos, con la finalidad de prolongar por mayor tiempo la vida de anaquel de la carne en refrigeración, ya que este no le conferiría ningún olor o característica diferente a la carne.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anwar, M.M.; Asael, M.A. Nasr, E.H. 2015. Extension shelf life of batte by using hydrocolloids and gamma irradiation. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* 8(4): 570-577.
- Australian Meat Processor Corporation (AMPC). 2015. Current Practice and innovations in meat Packaging. pp 97. Disponible en: <https://www.ampc.com.au/uploads/cgblog/id14/Current-Practice-and-Innovations-in-Meat-Packaging.pdf>

- Azarakhsh, N.; Osman, A.; Mohd, H.; Ping, Ch.; Mohd, N. 2014. Lemongrass essential oil incorporated into alginate-based edible coating for shelf life-extension and quality retention of fresh-cut pineapple. *Postharvest Biology and Technology* 88: 1-7.
- Aziz, M.; Karboune, S. 2016. Natural antimicrobial/antioxidant agents in meat and poultry products as well as fruits and vegetables: A review. *Critical reviews and Food Science and Nutrition* 20:1-26.
- Bahtiti, N.H. 2013. Study of Preservative Effect of "Propolis" on the Storage Quality of Mashed Potatoes. *Food Science and Technology* 1(2): 17-20.
- Casquete, R.; Castro, S.M.; Jácome, S.; Teixeira, P. 2016. Antimicrobial activity of ethanolic extract of propolis in "Alheira", a fermented meat sausage. Short communication. *Journal Cogen Food and Agriculture* 2: 1.
- De Ancos, B.; Fernández-Jalao, I.; Sánchez-Moreno, C. 2016. Compuestos funcionales en productos de IV y V gama. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 16(1): 8-17.
- Delgado, M. de A.; Andrade, J.A. y Ramírez, C.A. 2015. Caracterización físicoquímica de propóleos colectados en el bosque La Primavera Zapopan, Jalisco. *Rev. Mex. De cienc. Forestales* 6(28): 74-87.
- Dong, X.; Holley, R.A. 2012. Antimicrobial and antioxidative strategies to reduce pathogens and extend the shelf life of fresh red meats. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 11: 340-355.
- Doulgeraki, A.I.; Ercolini, D.; Villani, F.; Nychas, G-J. 2012. Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *International Journal of Food Microbiology* 157(2): 130-41.
- Fayaz, Z.; Pavan, K.; Sunil, K. 2013. Effect of skin, enrobing and refrigerated storage on the quality characteristics of chicken meat balls. *Journal of Food Science and Technology* 50(5): 890-899.
- Feás, X.; Pacheco, L.; Iglesias, A.; Estevinho, L.M. 2016. Use of Propolis in the Sanitization of Lettuce. *International Journal of Molecular Sciences*. 15(7): 12243-12257
- Fernandes, F.H.; Guterres, Z. da R.; Violante, I.M.P.; Lopes, T.F.S.; Garcez, W.F.; Garcez, F.R. 2015. Evaluation of mutagenic and antimicrobial properties of brown propolis essential oil from the Brazilian Cerrado brome. *Toxicology reports* 2: 1482-1488.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. Livestock Information, Sector Analysis and Policy Branch (FAO y AGAL). 2003. Sector Report. Bolivia, Ecuador, Ecuador, Perú, Venezuela. Condiciones estructurales, evolución (1990-2000) y perspectivas (2010, 2020-2030).
- González, M.I.; Suárez, H.; Martínez, O.I. 2009. Relación entre las características físicoquímicas y sensoriales en jamón de cerdo durante el proceso de cocción y temperatura de almacenamiento. *Vitae* 9; 16(2):183-189.
- Gutiérrez-Cortés, C. y Suárez, H. 2014. Antimicrobial activity of propolis and its effect on the physicochemical and sensorial characteristics in sausages. *VITAE, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia*. 21(2): 90-96.
- Higueras, L.; López, C.; Hernández, P.; Catalá, R.; Gavara, R. 2014. Antimicrobial packaging of chicken fillets based on the release of carvacrol from chitosan/cyclodextrin films. *International Journal of Food Microbiology* 188: 53-59.
- Köhn, C.R.; Fontoura, A.M.; Kempka, A.P.; Demiate, I.M.; Kubota, E.H. and Prestes, R.C. 2015. Assessment of different methods for determining the capacity of water absorption of ingredients and additives used in the meat industry. *International Food Research Journal* 22(1): 356-362.
- López, L.H.; Braña, D.; Hernández, I. 2013. Estimación de la vida de anaquel de la carne. Libro Técnico N°1. SAGARPA. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal. Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Querétaro- México. 86 pp .
- Malhotra, B.; Keshwani, A.; Kharkwal, H. 2015 Antimicrobial food packaging: potential and pitfalls. *Frontiers in Microbiology* 6(611): 1-9.
- Mitelut, A.C.; Tanase, E.E.; Popa, V.I.; Popa, M.E. 2015. Sustainable alternative for Food Packaging: Quitosan Biopolymer – A Review. *AgroLife Scientific Journal* 4(2): 52-61.
- Mohamed K.; Hassan, H.; Khalaf, A.; Sharoba, Hassan, H.; El-Tanahi, C. 2014. Incorporation of Essential Oils and Nanoparticles in Pullulan Films to Control Foodborne Pathogens on Meat and Poultry Products. *Journal of Food Science* 79(4): 675

- NTS N° 071- MINSA/DIGESA-V.01. 2008. Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. Disponible en: https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas_Legales/alimentos/RM591MINSANORMA.pdf
- Pascall, M.A.; Lin, S.J. 2013. The Application of Edible Polymeric Films and Coatings in the Food Industry. *Food Processing & Technology* 4(2):100-116.
- Passos, F.R.; Queiroz, F.; Crivelari da cunha, M.; Teixeira, M.; Xavier de Carvalho, A.M. 2016. Propolis extract in postharvest conservation banana 'Prata'¹. *Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal - SP* 38(2): e-931.
- Rao, W.; Sammugam, L.; Ramesh, N.; Hua, S. 2017. Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits. Review article. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Article ID 1259510, 21 pages.
- Realini, C.E.; Marcos, B. 2014. Active and intelligent packaging systems for a modern society. *Meat Science* 98(3): 404-419.
- Salatino, A.; Salatino, M.L.F. 2017. Why Do Honeybees Exploit so Few Plant Species as Propolis Sources? *MOJ Food Processing Technology* 4(5): 00107.
- Salgado, P.; Ortiz, C.; Musso, Y.; Di Giorgio, L.; Mauri, A. 2015. Edible films and coatings containing bioactives. *Current Opinión in Food Science* 5: 86-92.
- Sánchez-Ortega, I.; García-Almendáriz, B.E.; Santos-López, E.M.; Amaro-Reyes, A.; Barboza-Corona, E.; Regalado, C. 2014. Review article. Antimicrobial edible films and coatings for meat and meat products preservation. *The Scientific World Journal*. 18 pp.
- Sarıçoban, C.; Yerlikaya, S. 2016. As a Protective Material: Propolis. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies* 22(2), 56-63.
- Sepúlveda, C.A.; Restrepo, D.A.; Ciro, H.J. 2013. Efecto de la adición de hidrocoloides sobre las características reológicas de salmueras para elaboración de jamón cocido. *Revista Facultad Nacional de Agronomía* 66(1): 6969-6979.
- Suárez, H.; Jiménez, A. and Díaz, A.C. 2013. Physicochemical Evaluation of Cachama Fillets (*Piaractus brachipomus*) Preserved with Propolis during Storage. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín* 67(1): 7229-7236.
- Superintendencia de Industria y comercio. 2013. Boletín tecnológico de Tecnologías en envases para productos cárnicos. Bogotá. Colombia. 76pp.
- Torrescano, G.R.; Sánchez, A.; Gonzáles, N.F.; Camou, J.P. 2008. Tecnología e ingeniería del sacrificio y su repercusión en la calidad de la canal de los animales de abasto. *Nacahmed* 2(1): 78-94.
- Vargas-Sánchez, R.; Torrescano-Urrutia, G.; Acedo-Félix, E.; Carvajal-Millán, E.; Gonzáles-Córdova, A. Vallejo-Galland, B.; Torres-Llanez, M.J.; Sánchez-Escalante, A. 2014. Antioxidant and Antimicrobial Activity of Commercial Propolis Extract in Beef Patties. *Journal of Food Science* 79: 8
- Venkata, B.; Sivakumar, A.S.; Jeong, D.W.; Woo, Y.B.; Park, S.J.; Lee, S.Y.; Byun, J.Y.; Kim, C.H.; Cho, S.H. and Hwang, I. 2015. Beef quality traits of heifer in comparison with steer, bull and cow at various feeding environments. Review article. *Anim Sci J*. 86(1):1-16.
- Vodnar, D.C.; Pop, O.L.; Dulf, F.V.; Socaciu, C. 2015. Antimicrobial Efficiency of Edible Films in Food Industry. *Not Bot Horti Agrobo* 43(2): 302-312.